

# **Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)**

International application number: PCT/JP04/019360

International filing date: 24 December 2004 (24.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP  
Number: 2004-345099  
Filing date: 30 November 2004 (30.11.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 03 March 2005 (03.03.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

11.01.2005

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日      2004年11月30日  
Date of Application:

出願番号      特願2004-345099  
Application Number:

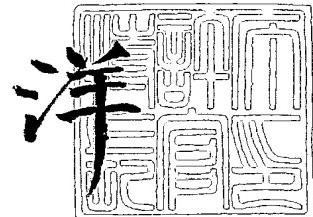
[ST. 10/C] : [JP2004-345099]

出願人      不二製油株式会社  
Applicant(s):

2005年 2月17日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小川



【書類名】 特許願  
【整理番号】 PY15040MM  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 A61K 31/00  
【発明者】  
【住所又は居所】 茨城県筑波郡谷和原村絹の台4丁目3番地 不二製油株式会社  
つくば研究開発センター内  
【氏名】 有島 俊治  
【発明者】  
【住所又は居所】 大阪府泉佐野市住吉町1番地 不二製油株式会社 阪南事業所内  
【氏名】 橋 伸彦  
【特許出願人】  
【識別番号】 000236768  
【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区西心斎橋2丁目1番5号  
【氏名又は名称】 不二製油株式会社  
【代表者】 浅原 和人  
【電話番号】 0724-63-1564  
【手数料の表示】  
【予納台帳番号】 029377  
【納付金額】 16,000円  
【提出物件の目録】  
【物件名】 特許請求の範囲 1  
【物件名】 明細書 1  
【物件名】 要約書 1

【書類名】特許請求の範囲

【請求項1】

L U U型及びU U L型トリアシルグリセロール（Lは炭素数16～22の長鎖飽和脂肪酸、Uは炭素数16～22の不飽和脂肪酸より構成される非対称型トリアシルグリセロール）を有効成分とするリパーゼ阻害剤。

【請求項2】

請求項1記載の非対称型トリアシルグリセロールを有効成分とする脂質吸収阻害剤。

【請求項3】

請求項1記載の非対称型トリアシルグリセロールを有効成分とする抗肥満剤。

【請求項4】

請求項1記載の非対称型トリアシルグリセロールを有効成分とする高脂血症改善剤。

【請求項5】

請求項1乃至請求項4何れか1項記載の剤を含有する食品。

【請求項6】

請求項1乃至請求項4何れか1項記載の剤を含有する医薬。

**【書類名】明細書**

**【発明の名称】リバーゼ阻害剤**

**【技術分野】**

**【0001】**

本発明は、リバーゼ阻害剤及びそれを含有する食品に関する。さらに詳しくは、生体内での脂質の消化吸収をしない、肥満症、高脂血症の鍵となる臍臓リバーゼを有効に阻害してこれらの疾病の抑制や予防に寄与し得る安全性の高い油溶性のリバーゼ阻害剤に関する。

**【背景技術】**

**【0002】**

近年、食事からの脂肪摂取の過剰による肥満と糖尿病・高脂血症・循環器疾患といった生活習慣病の関係が取り上げられ、問題とされている。これを改善する方法として、1. 食品中の油脂含量の低下、2. 油脂そのものの低カロリー化、3. 油脂代替物での置換、4. 代謝の促進、5. リバーゼ阻害剤などが提案されている。5. のリバーゼ阻害剤については、脂肪の臍臓リバーゼによる分解を阻害して肥満を抑制、予防する薬剤の開発が試みられている。

例えば、特許文献1では、紅景天、イワベンケイ、サボンソウ、ボルド、パスチャカ、トルメンチラ、エルカンプリ、ウコンイソマツ、チュチュウアシ、キャツクロ、シナモン、山椒、センダングサ、ウコギ、ストロベリー、モージエ、バラ、柿、セイヨウオトギリソウ、杜仲及び白茶からなる植物の群より選ばれる少なくとも1種を含有するリバーゼ阻害剤が提案されている。

**【0003】**

また、特許文献2では、ユッカ、高麗人参、ジャスミン茶、山査子、黄杞茶、ルイボス茶、大豆胚芽、生姜、および杜仲茶よりなる群から選択される少なくとも1種以上の素材からの抽出エキスを有効成分とするリバーゼ阻害剤が提案されている。

しかしながら、抽出物が殆ど水溶性のものであり油脂に混ぜることが出来なかったり、喫食時に服用させるしか方法がなく煩雑であったり、また抽出物の効果が不充分であったりしてその殆どが市場に出でていない。

一方、油脂に溶解できる油溶性の物質としては、特許文献3において、テトラヒドロリピスタチンを胃腸リバーゼ阻害剤として使用することが提案されている。この阻害剤はリバーゼそのものと直接共有結合して失活させるといわれており、その効果はかなり強力で一部には下痢症状も観られ、食品としては安全性の面での懸念が残り、よりマイルドに効果を発揮するような油溶性のリバーゼ阻害剤が望まれている。

**【0004】**

**【特許文献1】特開2002-179586号公報**

**【特許文献2】特開2002-275077号公報**

**【特許文献3】米国特許第4598089号明細書**

**【発明の開示】**

**【発明が解決しようとする課題】**

**【0005】**

本発明の目的は、脂肪の過剰摂取による肥満や肥満が原因で発生する疾病の予防や治療に寄与し得て、且つあらゆる油脂に添加し得る油溶性のリバーゼ阻害剤を提供することにある。

**【課題を解決するための手段】**

**【0006】**

本発明者らは、上記の問題を解決するため鋭意研究をおこなった結果、グリセロールの1位が長鎖飽和脂肪酸、2位と3位が長鎖不飽和脂肪酸より構成される非対称型トリアシルグリセロール及びグリセロールの3位が長鎖飽和脂肪酸、1位と2位が長鎖不飽和脂肪酸より構成される非対称型トリアシルグリセロールが臍臓リバーゼの活性を阻害することを発見し、この非対称型トリアシルグリセロールをベース油脂中に少量含むことにより油

脂全体の分解速度が緩和されることを見出したのである。

即ち本発明の第1は、L U U型及びU U L型トリアシルグリセロール（Lは炭素数18～22の長鎖飽和脂肪酸、Uは炭素数16～22の不飽和脂肪酸より構成される非対称型トリアシルグリセロール）を有効成分とするリパーゼ阻害剤である。第2は、第1記載の非対称型トリアシルグリセロールを有効成分とする脂質吸収阻害剤である。第3は、第1記載の非対称型トリアシルグリセロールを有効成分とする抗肥満剤である。第4は、第1記載の非対称型トリアシルグリセロールを有効成分とする高脂血症改善剤である。第5は、第1乃至第4何れか1に記載の剤を含有する食品である。第6は、第1乃至第4何れか1に記載の剤を含有する医薬である。

#### 【発明の効果】

##### 【0007】

本発明のL U U型及びU U L型トリアシルグリセロールはリパーゼ活性を強力に阻害し、かつ油溶性でありあらゆる油脂に添加でき、脂肪の過剰摂取による肥満や肥満が原因で発生する疾病的予防や治療に有効である。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

##### 【0008】

本発明における、リパーゼによる加水分解を遅延させる油溶性物質L U U型及びU U L型トリアシルグリセロールは、そのグリセロールの1位、又は3位に結合する脂肪酸が飽和脂肪酸で炭素数16のパルミチン酸から炭素数22のベヘン酸までのものであってより長鎖脂肪酸が好ましく、2位と3位（L U U型の場合）又は1位と2位（U U L型の場合）に結合する脂肪酸が炭素数16のパルミトオレイン酸から炭素数22のエルシン酸までの脂肪酸で構成されるもので、長鎖不飽和脂肪酸はモノ不飽和脂肪酸からポリ不飽和脂肪酸までのいずれでも良いが、実際に使用する場合の酸化安定性の観点からはモノ不飽和が好ましい。このようなL U U型、又はU U L型トリアシルグリセロールの一部例をあげるとSOO（1位がステアリン酸、2,3位がオレイン酸）、OOS（3位がステアリン酸、1,2位がオレイン酸）、S Li L i（1位がステアリン酸、2,3位がリノール酸）、S Ln L n（1位がステアリン酸、2,3位がリノレン酸）、BOO（1位がベヘン酸、2,3位がオレイン酸）、BLiO（1位がベヘン酸、2位がリノール酸、3位がオレイン酸）などが例示でき、これらの中ではBOO（1位がベヘン酸、2,3位がオレイン酸）、OOB（3位がベヘン酸、1,2位がオレイン酸）が好ましい。

##### 【0009】

このL U U型及びU U L型トリアシルグリセロールの油脂は、そのグリセロールの1位、又は3位に結合する脂肪酸が長鎖飽和脂肪酸であるため、リパーゼによる加水分解を受け難い性質を有し、このL U U型及びU U L型トリアシルグリセロールをベース油脂中に0.5～30重量%、好ましくは1～15重量%、最も好ましくは1～10重量%含むことで、リパーゼによる加水分解が緩和・遅延されるというものである。

油脂に対するリパーゼ阻害剤による加水分解の緩和・遅延程度としては、マイルドな阻害効果が好ましく、具体的には摂取油脂の1～3割程度、好ましくは1～2割程度が分解されにくい状態を理想とする。

また、L L U型やL U L型トリアシルグリセロールのように長鎖飽和脂肪酸が分子内に2本導入されたものでは融点が上昇し体温付近では結晶化してしまうため、生体内でリパーゼの基質として認識されにくくなり、阻害効果が期待できない。

##### 【0010】

このL U U型及びU U L型トリアシルグリセロールは一般的には動物・植物・魚由來の長鎖飽和脂肪酸を含む油脂あるいはそのエステル体と、長鎖不飽和脂肪酸を含む油脂とを任意の配合で混合した後、1,3位特異性のあるリパーゼを使用して公知の方法でエ斯特ル交換されることで得られる。植物油脂としては例えば、大豆油、菜種油、パーム油、綿実油、ヒマワリ油、コーン油、キャノーラ油などが挙げられ、動物油脂としては牛脂、豚脂、魚油などが挙げられる。また、非選択的エ斯特ル交換、例えばナトリウムメチラートなどのアルカリ系触媒を用いてつくることも可能ではあるが、位置異性体であるU L U、

UUU、LLU、LUL、LLlができるため、その後の濃縮操作が煩雑となり、あまり実用的ではない。かくして得られたLUU型及びUUL型油脂はその後、分別などの通常の加工処理を施して80%前後まで濃縮することが出来る。

#### 【0011】

本発明のLUU型及びUUL型トリアシルグリセロールはそのまま使用してもよいし、また任意に他のベース油脂にブレンドして使用してもよい。ブレンドされる比率は期待する効果や使用する系によって異なるが、ベース油脂は食用の動・植物油脂であればなんら制限はない。

#### 【0012】

本発明のLUU型及びUUL型トリアシルグリセロールは、通常油脂を含有する食品に広く使用することができる。例えばクリーム・マーガリン・マヨネーズ・ドレッシング・乳製品といった乳化食品、チョコレートに代表される菓子類、パン類、ハム・ソーセージ等の食肉加工品、かまぼこ・ちくわ等の水産加工食品などに添加して風味・食感を損なうことなく使用できる。

#### 【0013】

本発明のリバーゼ阻害剤、脂質吸収阻害剤、抗肥満剤、高脂血症改善剤及びこれらを含有する医薬の投与方法は、経口投与または非経口投与のどちらでよい。投与に際しては、有効成分を経口投与、直腸内投与、注射などの投与方法に適した固体または液体の医薬用担体と混合して、製剤の形態で投与することができる。

#### 【実施例】

#### 【0014】

以下に本発明の実施例を示し本発明をより詳細に説明するが、本発明の精神は以下の実施例に限定されるものではない。なお、例中、%及び部は、いずれも重量基準を意味する。

#### 【0015】

##### 製造例1

沃素価84のハイオレイックヒマワリ油50部と純度95%のベヘン酸エチル50部を混合し、1, 3位特異性のリバーゼ (Novozymes, Lipozyme RM-IM) を用いてエステル交換を行うことにより反応油を得、蒸留によりエステル類を除去した後、さらにヘキサン100部を加え-5℃で晶析・分別を行うことにより純度70%のLUU/UUL画分20部、純度78%のLUL画分30部を得た。

#### 【0016】

##### 薬理試験1

この得られたLUU/UUL画分を大豆油中1部 (LUU/UUL純度約0.7%) , 5部 (LUU/UUL純度約3.5%) , 10部 (LUU/UUL純度約7.0%) それぞれ置換した系やLUL画分そのもの (LUU/UUL純度70%) の系で、以下のリバーゼ活性測定を行った。各油脂80mgをサンプリングし、ホスファチジルコリン (Sigma社) 80mg、タウロコール酸Na (和光純薬工業) 5mg、0.1M NaClを含む0.1MTES緩衝液9ml (PH 7) を各加えた後、超音波発振子で1分間乳化したものを基質した。基質300μlを採取し、ブタ臍臓リバーゼ (Sigma社) を5μl (5U) 加え、37℃で1時間反応後、3mlの抽出溶媒 (クロロホルム/ヘプタン/メタノール=49部/49部/2部で混合したもの) を加え良く攪拌した後、2500rpmで5分間遠心分離を行い、上層を除去し、下層に銅試薬 (トリエタノールアミン2.98g、硝酸銅2.42g、NaOH 0.48gを水200mlに溶解し、さらにNaClを6.6g加えたもの) を1ml加え、10分間攪拌し、2500rpmで10分遠心分離し、上層1.5mlを採取し、発色試薬 (バソクプロイン0.2g、ブチルヒドロキシアニソール0.1gをクロロホルム200mlに溶解したもの) 1.5mlを加えて遊離した脂肪酸をOD480での吸光度にて定量した。表-1に大豆油そのものの系に対する相対活性を示した。表1に示されるようにLUU/UULで1部を置換した系で約15%、5部を置換した系で約25%活性が阻害されることが判明した。

**【0017】****比較薬理試験1**

製造例1で得られたLUL画分を大豆油中1部（LUL純度約0.8%），5部（LUL純度約3.9%），10部（LUL純度約7.8%）それぞれ置換した系、及びLUL画分そのものの系（LUL純度7.8%）で先述の試験例と同様のリバーゼ活性測定を行った。表1に示されるようにLULの置換量が増加しても顕著な阻害効果は認められず、また結晶化による一部乳化破壊も確認され、リバーゼの加水分解抑制の効果は無いと判断された。

**【0018】****比較製造例1**

沃素価1のトリベヘン40部と純度98%のオレイン酸エチル60部、さらにヘキサン300部を混合して1，3位特異性のリバーゼ（Novozymes, Lipozyme RM-IM）を用いてエステル交換を行うことにより反応油を得、脱溶剤して蒸留によりエステル類を除去した後、さらにヘキサン100部を加え所定の温度で晶析・分別を行うことにより純度72%のLLU/ULL画分15部、純度70%のULU画分10部を得た。

**【0019】****比較薬理試験2**

比較製造例1で得られたLLU/ULL画分を大豆油中1部（LLU/ULL純度約0.7%），5部（LLU/ULL純度約3.6%），10部（LLU/ULL純度約7.2%）それぞれ置換した系、及びLLU/ULL画分そのものの系（LLU/ULL純度7.2%）で先述の試験例と同様のリバーゼ活性測定を行った。表1に示されるように、LLU/ULLの置換量が増えるとややリバーゼの加水分解抑制効果は認められるが、LUU/UUL程の効果は認められなかった。

**【0020】****比較薬理試験3**

比較製造例1で得られたULU画分を大豆油中1部（ULU純度約0.7%），5部（ULU純度約3.5%），10部（ULU純度約7.0%）それぞれ置換した系、及びULU画分そのものの系（ULU純度7.0%）で先述の試験例と同様のリバーゼ活性測定を行った。表1に示されるように、ULUの置換量が増えても、顕著なリバーゼの加水分解抑制効果は認められなかった。

**【0021】**

【表1】

## 大豆油に対する試験油脂の相対活性

薬理試験	油脂配合 (部)	相対活性 (%)
Control(大豆油)	100/0	100
薬理試験 1 (大豆油／(LUU/UUL))	99/1	85
	95/5	75
	90/10	71
	0/100	54
比較薬理試験 1 (大豆油／LUL)	99/1	95
	95/5	93
	90/10	95
	0/100	92
比較薬理試験 2 (大豆油／(LLU/ULL))	99/1	99
	95/5	95
	90/10	93
	0/100	89
比較薬理試験 3 (大豆油／ULU)	99/1	102
	95/5	99
	90/10	105
	0/100	103

## 【0022】

## マウスでの消化吸収試験

製造例1で得られたLUU／UUL画分を使用して約2ヶ月間のマウスでの消化吸収試験を行った。使用したマウスはC57BL/6Jで7週齢から1週間予備飼育後、食餌組成はAIN-93G組成を一部改良した表2の配合飼料にて大豆油群をコントロールにして各群6匹で約2ヶ月間飼育し、体重変化・飼料効率・体脂肪率の測定を行った。体脂肪率の測定は、実験マウス専用エックス線骨密度測定装置、PIXImus2(GE Medical systems)を使用した。マウスでの56日間の消化吸収試験の結果、SUU／UUS画分を使用した群では体重で約9%、飼料効率で12%の低下が認められ、また体脂肪率では約13%の低下が観られ、脂肪の過剰摂取による肥満にのLUU／UL微量添加が効果的であることが示唆された。これらの結果を表3に纏めた。

## 【0023】

【表2】

## 食餌組成(wt%)

組成	大豆油群	LUU/UUL 画分 使用群
大豆油	10.0	10.0
LUU/UUL 画分(試験油脂)	—	0.5
Casein	20.0	20.0
Sucrose	10.0	10.0
$\beta$ -corn starch	36.75	36.25
$\alpha$ -corn starch	13.2	13.2
L-Cystine	0.3	0.3
cellulose powder	5.0	5.0
Min. mix (AIN-93G)	3.5	3.5
Vit. mix (AIN-93G)	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.25	0.25
Total weight	100.00	100.00

【0024】

【表3】

## 飼育結果

		大豆油群	LUU/UUL 画分使用群
体重	飼育開始前	22.9±0.5	22.8±0.3
	56日飼育後	34.0±1.2	30.8±1.4
飼料効率	56日飼育後	0.074±0.003	0.065±0.004
体脂肪率	飼育開始前	20.2±0.9	19.1±1.0
	56日飼育後	40.5±1.5	35.1±1.4

## 【産業上の利用可能性】

【0025】

本発明により、リパーゼ活性を緩やかに阻害し、かつ油溶性であり、あらゆる食用油脂に添加でき、脂肪の過剰摂取による肥満や肥満が原因で発生する疾病の予防や治療に有効であるリパーゼ阻害剤、およびそれを含む油脂組成物を得ることが可能となったのである。

【書類名】要約書

【要約】

【課題】本発明の目的は、脂肪の過剰摂取による肥満や肥満が原因で発生する疾病の予防や治療に寄与し得て、且つあらゆる油脂に添加し得る油溶性のリパーゼ阻害剤を提供することにある。

【解決手段】本発明は、L U U型及びU U L型トリアシルグリセロール（Lは炭素数16～22の長鎖飽和脂肪酸、Uは炭素数16～22の不飽和脂肪酸より構成される非対称型トリアシルグリセロール）を有効成分とするリパーゼ阻害剤であり、脂質吸収阻害剤であり、抗肥満剤であり、または高脂血症改善剤であって、これらの剤を含有する食品であり、これらの剤を含有する医薬である。

【選択図】なし

## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願2004-345099
受付番号	50402037410
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成16年12月 1日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

【提出日】	平成16年11月30日
-------	-------------

特願 2004-345099

出願人履歴情報

識別番号 [000236768]

1. 変更年月日 1993年11月19日

[変更理由] 住所変更

住 所  
氏 名  
大阪府大阪市中央区西心斎橋2丁目1番5号  
不二製油株式会社